

バイオ用カーボンナノファイバーの開発

佐藤 義倫¹⁾, 秋本 結輝²⁾, 大坪 誠²⁾, 畠山 力三¹⁾, 田路 和幸²⁾

1) 東北大院・工, 2) 東北大院・環境科学

Development of carbon nanofibers for biomedical uses

Yoshinori SATO¹⁾, Yuki AKIMOTO²⁾, Makoto OHTSUBO²⁾,

Rikizo HATAKEYAMA¹⁾, Kazuyuki TOHJI²⁾

1) Tohoku University, Graduate School of Engineering, Sendai, Miyagi, Japan

2) Tohoku University, Graduate School of Environmental Studies, Sendai, Miyagi, Japan

Cone-stacked carbon nanofibers were simply cut and well dispersed in water using sonication in a mixture of concentrated H₂SO₄ and HNO₃ in order to use them as the biomaterials. The “cut” cone-stacked carbon nanofibers were characterized by SEM, TEM, XRD, and FT-IR measurements. Carbon nanofibers were easily cut into 400-nanometer to 1.5-micrometer lengths. The resulting cut nanofibers formed a stable solution in water without the help of surfactants.

1. はじめに

近年、フラーレン (fullerenes)¹⁾、カーボンナノチューブ (carbon nanotubes; CNTs)²⁾、カーボンナノファイバー (carbon nanofibers; CNFs)³⁾などの sp² 混成軌道で結合された籠状構造を持つ炭素物質が電界電子放出源、複合材料、電池電極などの機能性炭素材料として期待されている⁴⁾。とりわけ、炭素 2 重結合からなる円筒構造に由来する高強度、高弾性率を持つ CNTs の機械特性は、歯根や骨などに代替材料として生体材料分野で興味を持たれており、また、CNTs や CNFs が持つナノサイズの空間と大きな比表面は、「遺伝子導入のためのベクター」、「インターカレーションによる生体過剰イオンの除去」、「機能性糖鎖の吸着」などのナノサイズのキャリアを用いたドラッグターゲティングに使われる機能としても注目されている⁵⁾。

炭素材料を生体材料に応用する試みは、グラファイトが高血栓性に優れていることから始まり⁶⁾、その後、主に炭素繊維強化炭素複合材料 (carbon fiber-reinforced carbon composite; C/C composite) を使った人工心臓弁、人工関節、骨固定具、人工歯根材⁷⁾などを中心に研究されてきた。歯根などのバルクサイズで応用する炭素材料の場合は生体親和性があると報告されているが、ナノサイズの炭素材料を生体に応用する場合には、形状やサイズによる生体適合性を調べなければならない。よって、CNTs、CNFs の生体適合性を調べるためには、それらが水に分散・可溶化することが必須であり、また細胞に取り込まれる大きさにしなくてはならない。CNTs の水溶化では、グラファイトシートが円筒状に繋ぎ目のない構造を持つことによりグラファイトエッジが露出されず、親水基を付加させるサイトがないために水溶化が困難であること、また水溶化させる界面活性剤は生体内

の反応に影響を与え、起こっている反応事象を複雑化するために使用することができないことなどが問題となっている。一方、コーン状グラフィンを重ねた構造を持つ繊維状の CNFs はコーンの端にグラフィンのエッジが存在するため、多くの親水基や特異的な官能基を付加することができる。また、それぞれのコーンは結合力の弱いファンデルワールス結合であり、コーンを切り離すことによって CNFs を切断し、CNFs のサイズを制御することも可能である。

本研究では、CNFs の親水化向上のため、酸化力の強い硫酸と硝酸の混液で CNFs のエッジを酸化し、親水基を付加させた。また、同時に超音波照射を行うことで CNFs の切断を行った。CNFs の形態は走査形電子顕微鏡 (scanning electron microscope; SEM)、透過形電子顕微鏡 (transmission electron microscope; TEM)、X 線回折測定 (X-ray diffraction; XRD) を用いて調べた。CNFs に付加された置換基はフーリエ変換赤外分光測定 (fourier transform infrared spectroscopy; FT-IR) で調べ、CNFs サンプル中に含まれる元素は TEM に装備しているエネルギー分散型 X 線分析 (energy disperse X-ray analysis; EDX) によって調べた。

2. 実験

2-1. CNFs の合成・精製

コーン状グラフィンを重ねた構造を持つ CNFs は、化学気相蒸着法 (chemical vapor deposition; CVD) により Ni 触媒を用いて合成した⁸⁾。Ni 触媒を入れたアルミナボートを石英管に入れ、水平型管状炉に配置した。Ni 触媒は 10% の H₂/He ガスで 600℃、2 分間還元処理を行い、この後、管状炉を 600℃ に保持したまま、C₂H₄/H₂ (4:1) の混合ガスを導入し、4 時間反応させた。上記で合成した CNFs 300 mg を大気中、773 K で 90 分間燃焼した後、燃焼物を 6M-HCL 100 mL に入れ、333 K で 12 時間静置させ Ni 金属微粒子を除去した。この溶液をろ過し、ろ過物を 6M-HNO₃ 100 mL に入れ、333 K で 12 時間静置させた。再度、この溶液をろ過し、ろ過物を大気中、333K で 24 時間乾燥させた。

2-2. CNFs の表面改質・切断処理

精製した CNFs 100 mg を濃硫酸 (95%) : 濃硝酸 (60%) = 3 : 1 (v/v %) の混合液 100mL に入れ、超音波照射 (200 W、39 kHz) を行った。超音波照射時間による CNFs への置換基付加と切断効果を調べるために、照射時間は 2 時間、4 時間、6 時間行った。照射後、ポアサイズ 0.1 μm の PTFE メンブランフィルターでろ過を行い、ろ液が中性になるまで蒸留水でよく洗浄した。洗浄後、ろ過物は 333 K、24 時間以上乾燥させた。

2-3. 評価装置

SEM 観察は Hitachi S-4100 Scanning Electron Microscope を使い、加速電圧 5kV で行った。TEM 観察では、加速電圧 200kV の Hitachi HF-2000 FIELD EMISSION Transmission Electron

Microscope を用いた。EDX は NORAN VANTAGE を装備した透過形電子顕微鏡内で測定した。FT-IR 測定は Thermo Nicolet Avtar 360 を用い、KBr に試料を混ぜて透過法によって測定した。X 線回折測定は Cu の特性 X 線（波長 0.154 nm）を装備した Rigaku の粉末 X 線回折装置を用い、ガラス製の XRD ホルダーに試料を詰めて行った。

3. 結果と考察

図 1 (a)、(b) は CNFs の精製後の SEM 写真と TEM 写真である。未精製 CNFs に観察される少量のアモルファスカーボンは取り除かれ、CNFs が高純度で精製されていることが観察された。形状は曲がりくねった繊維状であり、直径 25 nm – 200 nm、長さ 100 nm – 5.0 μm と広範囲に渡って分布していることがわかった。図 1 (c) の高分解 TEM 写真から観察されるように、CNFs はコーン形をしたグラフィンが繊維軸に沿って重なった構造を持ち、コーンのエッジ部分が繊維軸を頂点にして円錐方向にむき出しになっている。コーングラフィン間の面間隔は約 0.34 nm であり（図 1 (c) の挿入図）、コーンの円錐角は 60° から 120° と様々で、その円錐角は Ni 触媒の形状に依存している。図 1 (d) は精製後の CNFs

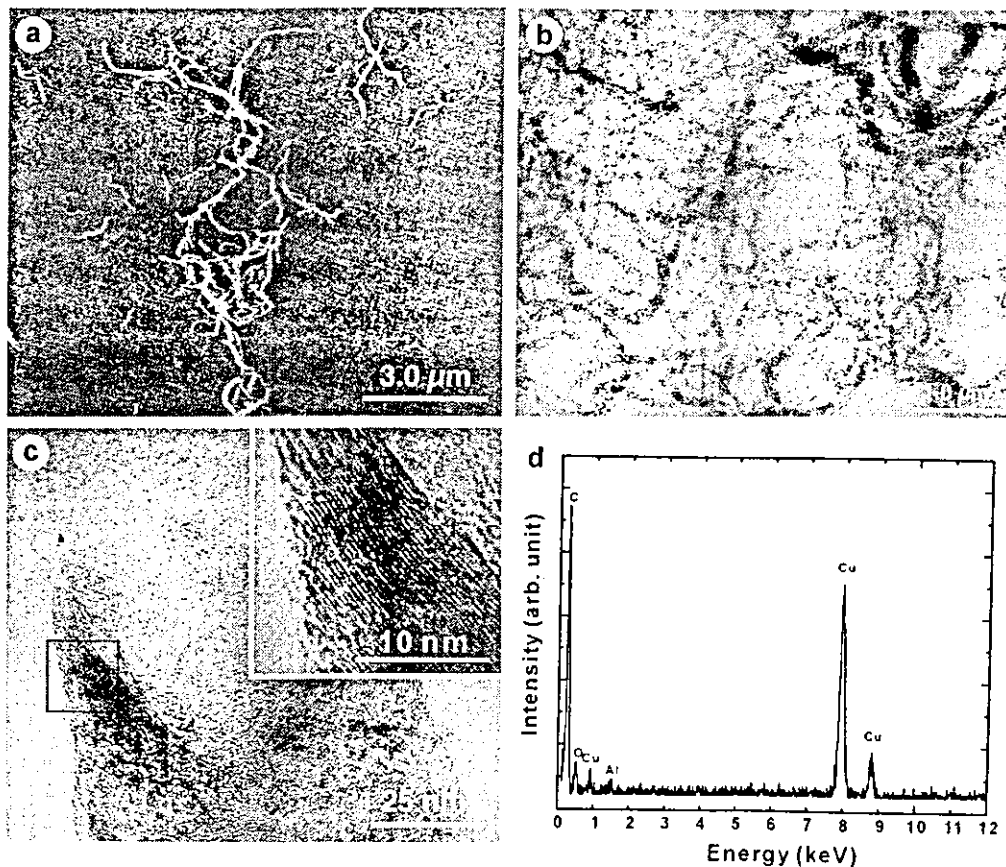


Figure 1. SEM photograph (a), TEM photographs (b and c) of the low magnification and high magnification of the purified cone-stacked carbon nanofibers. Inset shows the lattice image of the cone-graphite layers. EDX spectrum (d) of the purified cone-stacked carbon nanofibers.

の TEM-EDX スペクトルである。Al、Cu の検出は TEM サンプルホルダーと Cu 製 TEM グリッドから由来するものである。サンプルからは C と O が検出され、Ni が検出されないことから Ni 触媒金属は取り除かれていることがわかる。

図 2 (a)、(b)、(c) は精製 CNFs を濃硫酸：濃硝酸=3：1 (v/v %) 混合液中で、それぞれ 2 時間、4 時間、6 時間の超音波照射を行った後の SEM 写真である。2 時間、4 時間、6 時間超音波処理した CNFs の平均長さは 1.5 μm 、800 nm、400 nm であり、超音波照射時間が長くなるにつれて、CNFs の長さが短くなっている。また、未処理 CNFs の長さ分布に比べて、処理後の CNFs は長さ分布のバラツキ度が小さくなっており、超音波照射時間により長さ制御が可能であることがわかった。

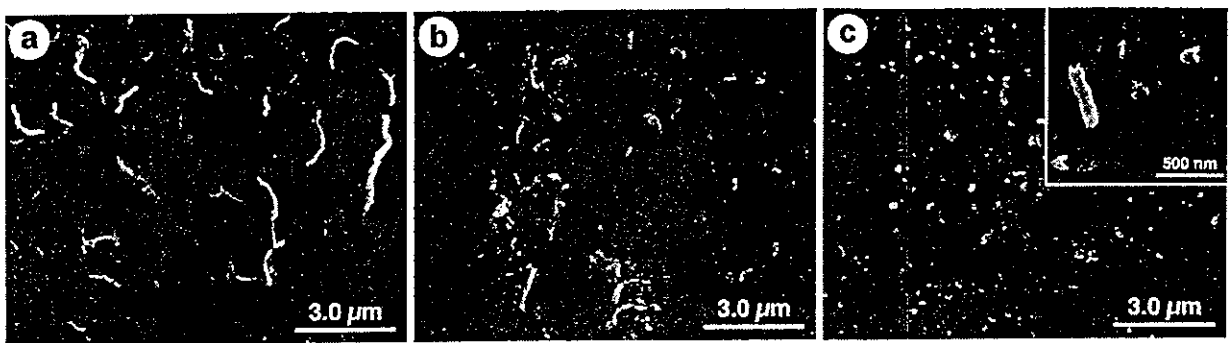


Figure 2. SEM photographs of the cut cone-stacked carbon nanofibers after 2 hrs (a), 4 hrs (b), and 6 hrs (c) of sonication in a mixture of concentrated H_2SO_4 (95%) and HNO_3 (60%).

図 3 は精製 CNFs を濃硫酸：濃硝酸=3：1(v/v %)混合液中で超音波照射を行った後の XRD パターンである。未精製の CNFs では $2\theta = 26.0 \text{ deg.}$ にコーン状グラファイトの(002)面の回折ピークと、 $2\theta = 44.5 \text{ deg.}$ と $2\theta = 51.8 \text{ deg.}$ に(111)面と(200)面の Ni の回折ピークが観測された。 $2\theta = 26.0 \text{ deg.}$ から見積ったコーン状グラファイトの面間隔は 0.342 nm であり、グラファイトの面間隔 0.335 nm より広いことがわかる。この理由は CNFs を構成するコーングラフィンの円錐角やコーングラフィンのカイラリティーが異なることで、上下のグラフィン間での炭素原子の位置が本来のグラファイトの規則正しい位置からずれが生じているためである。一方、精製 CNFs で

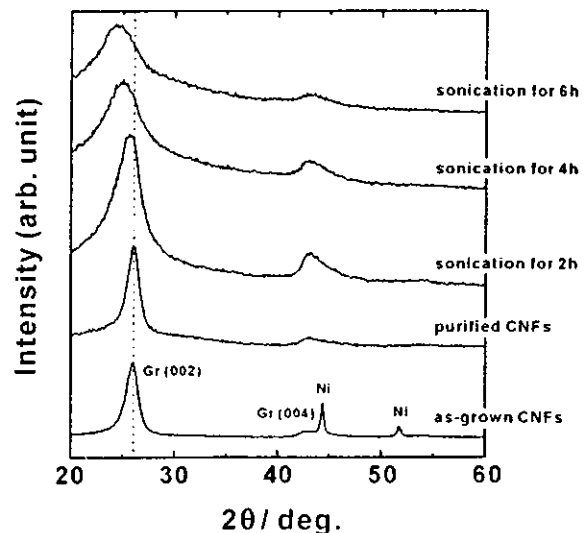


Figure 3. XRD patterns of the CNFs. From bottom, the as-grown CNFs, the purified CNFs, and the sonicated CNFs for 2 hrs, 4 hrs, and 6 hrs.

は $2\theta = 26.0$ deg. に (002) 面の回折ピークが強く現れており、Ni の回折ピークは観測されない。Ni が除去されていることがわかる。強酸中で超音波処理を行ったサンプルの (00 l) 面の回折ピークは超音波照射時間が長くなるにつれて、低次側の方にシフトしており、(00 l) 面の面間隔は 0.348 nm (2 時間)、0.3556 nm (4 時間)、0.366 nm (6 時間) と最大 0.018 nm の増加が観測された。超音波照射後のサンプルの面間隔は「硫酸、硝酸分子のコーン状グラファイトへの挿入⁹⁾」あるいは「酸化されたコーン状グラファイト層間の乱れ」の可能性があり、一方、超音波照射時間が長くなるにつれ、回折ピークがブロードしていることから、グラファイト結晶子が微細化されており、コーン状ナノファイバーが短くなっていることが読み取れる。このことは SEM 観察の結果と一致している。通常、濃硫酸：濃硝酸 = 3 : 1 (v/v %) 混合液中に浸されるグラファイトは、硫酸、硝酸分子がグラファイト層の第 1 ステージに挿入されて、面間隔が約 3 倍に膨張することが知られている¹⁰⁾。このような現象を考慮すると、CNFs の切断は湾曲した部分の大きい面間隔をもつ部分に強酸のインターカレントが挿入され、層間が開き、層間の相互作用が弱くなった状態に超音波照射されることによって、層がバラバラに剥離して水中に分散すると推測される。

図 4 は強酸混合液中で 2 時間超音波照射を行った切断 CNFs の水溶液 (濃度 10 mg L^{-1}) の 2 時間放置した写真である。2 時間超音波照射を行った切断 CNFs は平均の長さ $1.5 \mu\text{m}$ であるが、非常によく水に分散している。図 5 は濃硫酸：濃硝酸 = 3 : 1 (v/v %) 混合液中で超音波照射を行った CNFs の赤外吸収スペクトルである。 1584 cm^{-1} 付近に観測される吸収はグラフィン面内の炭素二重結合の伸縮振動であり、すべての CNFs の赤外吸収スペクトルに現れている。IR によるグラファイトに付加されている官能基の定性は難しく複雑であるが¹¹⁾、強酸中で超音波照射を 2 時間、4 時間、6 時間行った試料では、水酸基 (-OH) が付加したグラフィンの炭素-酸素結合 (C-OH) の伸縮振動 (1240 cm^{-1})、水酸基 (-OH) が付加したグラフィンの面内変角振動 (1400 cm^{-1})、カルボキシル基 (-COOH) の炭素-酸素 2 重結合 (C=O) の伸縮振動 (1720 cm^{-1}) の吸収スペクトルと同定された。これらの吸収スペクトルから、濃硫酸と濃硝酸による酸化剤によって、コーン状グラファイトのエッジが酸化され、親水基が CNFs のエッジに付加されていることが示唆される。

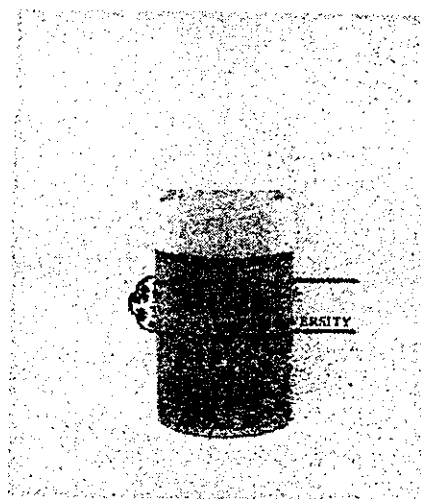


Figure 4. The photograph of the cut CNFs dispersed in water for 2 hrs. The cut CNFs were sonicated in strong acids for 2 hrs. (Concentration of 10 mg L^{-1} in water)

4. まとめ

CNFs の親水化向上のため、濃硫酸と濃硝酸の混液中で CNFs のエッジを酸化し、水酸基、カルボキシル基を付加させることで、水溶性 CNFs を調製した。同時に強酸中の超音波照射を行うことによって CNFs を切断した。切断された CNFs の長さは 2 時間、4 時間、6 時間の超音波処理に対して、1.5 μm 、800 nm、400 nm と短くなり、超音波照射時間によって長さ制御が可能であることがわかった。我々は、CNFs をナノバイオマテリアルとして利用するために、一段階で簡便に調製できる「CNFs の切断と水溶性」技術を確立した。

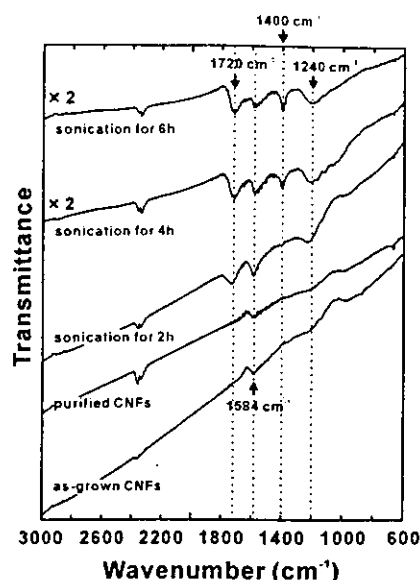


Figure 5. FT-IR spectra of the CNFs. From bottom, the as-grown CNFs, the purified CNFs, and the sonicated CNFs for 2 hrs, 4 hrs, and 6 hrs.

謝辞

本研究の一部は、文部科学研究費（基盤(S)14103016、13852016）および厚生科研費（課題 H14-ナノ-021）によるものである。本研究を遂行するにあたり、電子顕微鏡観察に貴重なご支援を頂いた本宮憲一技官に感謝致します。

参考文献

- 1) H. W. Kroto, J. R. Heath, S. C. O'Brien, R. F. Curl, R. E. Smalley, *Nature* **318**, 162 (1985).
- 2) S. Iijima, *Nature* **354**, 56 (1991).
- 3) A. Oberlin, M. Endo, T. Koyama, *J. Cryst. Growth* **32**, 335 (1976).
- 4) R. H. Baughman, A. A. Zakhidov, W. A. de Heer, *Science* **296**, 2198 (2002)
- 5) V. L. Gott, J. D. Whiffen, R. C. Dutton, *Science* **142**, 1297 (1963).
- 6) G. M. Jenkins, *Clin. Phys. Physiol. Meas.* **3**, 171 (1980).
- 7) M. Yokoyama, T. Okano, *Advanced Drug Delivery Reviews* **21**, 77 (1996).
- 8) N. M. Rodriguez, *J. Mater. Res.* **8**, 3233 (1993).
- 9) M. D. Levi, E. Levi, Y. Gofer, D. Aurbach, E. Vieil, J. Serosé, *J. Phys. Chem. B* **103**, 1499 (1999).
- 10) S. F. McKay, *J. Appl. Phys.* **35**, 1992 (1964).
- 11) E. Fuente, J. A. Menendez, M. A. Diez, D. Suarez, M. A. Montes-Moran, *J. Phys. Chem. B* **107**, 6350 (2003).

酸化物磁性ナノ粒子の合成と医療応用の検討

○渥美崇, B.ジャヤデワン, 田路和幸

東北院・環境

Synthesis and Medical Applications of Oxide Magnetic Nanoparticles

○Takashi ATSUMI, Balachandran JEYADEVAN, Kazuyuki TOHJI

TOHOKU University, Graduate School of Environmental Studies, Sendai, Miyagi, Japan

It is considered that magnetic nanoparticles, such as magnetite could be used for biomedical applications. Actually, magnetite particles are being used as a contrast medium in magnetic resonance imaging, in the hyperthermia treatment of cancer and in drug delivery. Magnetite beads are used for the purification of DNA or virus. The size and size distribution of magnetic nanoparticles are very important factors for the biomedical applications. We have synthesized Fe_3O_4 particles, with the average size of 10 and 40nm, by using the coprecipitation process. To synthesize particles larger than 40nm oxidation method is considered. Using the oxidation method, we have successfully synthesized CoFe_2O_4 particles with a good control over particle size in the range of 15 to 110 nm. This expertise will be used to prepare magnetite particles with average sizes larger than 40 nm. The application of 40 nm magnetite particles for the development of a new type of sentinel lymph node detection technique is also reported.

1.序論

磁性ナノ粒子は、Fe や Co などの金属単体の金属、FeCo や FePt などの合金、 Fe_3O_4 (以降、マグネタイトと記述)や CoFe_2O_4 (以降、コバルトフェライトと記載)などの酸化物、などに分類され、工業応用として磁気記録媒体をはじめ、印刷トナーやキャリア、磁性流体などに使用されている。特に磁気記録媒体の高密度化の実現のために、磁性ナノ粒子の素材、粒子径、粒度分布が大きな検討課題となっており、これらを制御する研究が盛んに行われている。

一方、磁性ナノ粒子は医療応用も数多く検討されてきている。磁性ナノ粒子を医療分野で用いる上での大きな利点は、1) 位置検出が可能、2) 外部からの誘導が可能、3) 表面積が大きい、4) 表面に物質を吸着できる、5) 小さいため細胞へ入り込める、などが考えられる。磁性ナノ粒子の中で特にマグネタイトは、生体適合性物質と言われており、MRI の造影剤としての利用がよく知られている。また、磁性ナノ粒子を腫瘍細胞上に注入し、外部からの交流磁場による粒子の発熱により癌細胞を死滅させる Hyperthermia(以降、MFH と記載)^{1),2)}、磁性ナノ粒子表面に制癌剤などを吸着させ標的部に粒子を誘導したのち薬剤を放出するドラッグデリバリー^{3),4)}、DNA やウイルスを濃縮回収する医用ビーズ^{5),6)} など様々な医療応用が検討もしくは実現している。

2.背景と目的

現在、MFHにおける腫瘍細胞への分散性の向上や粒子の発熱効率の向上、ドラッグデリバリーにおける磁性ナノ粒子への薬剤の吸着、標的部位への誘導、薬剤放出位置の検出、医用ビーズのスクリーニング速度などの向上が望まれている。それぞれの応用に対して、磁性ナノ粒子の最適な素材、粒子径、粒度分布の許容範囲が存在すると考えられるが、これまで医療応用のために材料、粒子径、粒度分布などの検討を行っている報告は少ない。医療応用に際して磁性ナノ粒子合成段階での粒子径、粒度分布制御技術が必要不可欠であり、様々な素材、粒子径、粒度分布の磁性ナノ粒子を合成することが重要である。

本研究では、医療応用に用いるため、様々な素材、粒子径の磁性ナノ粒子を合成することを目的とし、共沈法によりマグネタイト粒子、酸化法によりコバルトフェライト粒子を合成した。本研究で用いた酸化法を応用することによりマグネタイトの粒子径、粒度分布も制御可能であると考えられる。また、金属磁性ナノ粒子の医療応用検討のためポリオールを用いてコバルト粒子を合成した。ポリオールを用いることにより、合成後の粒子酸化を防ぐことが可能である。

また、実際の医療応用としてマグネタイト粒子を用いたセンチネルリンパ節検出法の検討を行った。センチネルリンパ節は、病巣から最初に転移が起こるとされるリンパ節のことである。手術において、病巣だけでなく転移が見られるリンパ節についても摘出することが重要である。現在は色素法、アイソトープ法、これら2つの併用法がセンチネルリンパ節の検出法として知られている。しかし、色素法においては着色物質の移行の判断が難しく、色素法による検出の豊富な経験が必要である。アイソトープ法においては、核医学検査室をもつ施設でしか用いる事ができない。そこで特別な施設を必要とせず、かつ経験によらない客観的な判断を行えるセンチネルリンパ節検出法が望まれている。そこで磁性ナノ粒子を用いたセンチネルリンパ節検出方法として、粒子径 100nm のマグネタイトを用いた研究が報告されている⁹⁾。

我々は、最適なリンパ節移行性マグネタイト粒子径についての検討を行う。本研究では、粒子径 40nm のマグネタイトを用いて、リンパ節への移行性について検討した。

3.実験方法

3.1 共沈法

Fe^{2+} と Fe^{3+} の水溶液中でのNaOHアルカリ共沈により粒子を合成する方法である。 Fe^{2+} と Fe^{3+} の混合液をNaOHアルカリ液に一気に添加することにより核生成、核成長を同時に起こしてマグネタイト粒子を合成する。 Fe^{2+} 量を多くすることにより、NaOHアルカリ液に混合液を添加した際に発生する初期の核の数を減少させ、 Fe^{2+} を Fe^{3+} にゆっくり酸化させることにより核成長させて粒子径を大きくすることができると考えられる。

本研究では、 Fe^{2+} と Fe^{3+} のモル比を変化させることにより粒子径の制御を検討した。

$\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ を 2M HCl 、 $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ を蒸留水にて溶解したのちに 2 液を混合した。混合液と同量の 5M NaOH 水溶液を 500rpm で攪拌し、混合液を一気に添加した。20 分間攪拌を継続したのち蒸留水にて粒子洗浄を行った。

3.2 酸化法

マグネタイト粒子径を調整するためには、 Fe^{2+} から Fe^{3+} への酸化速度を調整する必要がある。そこで、マグネタイトと同様に酸化物磁性ナノ粒子であるコバルトフェライト粒子合成について検討した。本研究では、 Fe^{2+} と Co^{2+} 水酸化物中間体を介し Fe^{2+} から Fe^{3+} への酸化を利用する方法を用いた。 Fe^{3+} と Co^{2+} により、コバルトフェライトの核生成、核成長が起こる。 Fe^{3+} の初期添加量、酸化速度を制御することにより粒子径を調整できると考えられる。

本研究では、 $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$ モル比を変化させることにより粒子径の制御を検討した。 $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot n\text{H}_2\text{O}$ と $\text{CoSO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ を用いてモル比 $\text{Fe}/\text{Co}=2$ に調整した。酸化剤である KNO_3 と調整した薬品を NaOH 水溶液中に溶解した。完全に溶解したのち 500rpm にて 150 分間攪拌した^{7),8)}。

3.3 ポリオールプロセス

ポリオールの還元力を利用することにより、金属前駆体から金属イオンを還元して核生成、核成長を起こす。還元速度が遅い、初期添加コバルトイオン濃度が低いなどにより発生する核の数が減少して粒子径が増大する。

本研究では、初期添加コバルトイオン濃度による粒子径の検討、還元速度を早めると考えられる白金の添加による粒子径の検討を行った。 $1,3$ -プロパンジオール(TMEG)に $\text{Co(II)Acetate Tetrahydrate}$ 、 NaOH を溶解した。 200°C にて 30 分間加熱攪拌することによりコバルト粒子の合成を行った。

4. 実験結果

4.1 共沈法

Fig.1 に合成したマグネタイトの SEM 写真を示す。 $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$ モル比を変化させて粒子を合成した。 $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}=0.5$ においては粒子径 $5\text{-}20\text{nm}$ 、 $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}=2$ では粒子径 $20\text{-}50\text{nm}$ のマグネタイトを合成した。 Fe^{2+} 量を増加させることにより発生する核の数が減少し、空気酸化により Fe^{2+} から Fe^{3+} への酸化がゆっくり起こったため粒子径が増加したと考えられる。しかし、本方法では全量の Fe^{2+} の酸化は長時間かかるため、現実的な粒子合成方法とはならないと考えられる。 40nm 以上の粒子を合成するには Fe^{2+} から Fe^{3+} への酸化速度を上昇させる必要がある。

4.2 酸化法

Fig.2 に合成したコバルトフェライトの SEM 写真を示す。Fe²⁺/Fe³⁺モル比を変化させて粒子径を合成した。Fe³⁺/Fe²⁺ =0 つまり Fe³⁺=0 のとき粒子径 100-110nm、Fe³⁺/Fe²⁺ =0.15 のとき 60-90nm、0.20、0.25、0.35、0.5 のとき、それぞれ 60-90nm、60-70nm、30-40nm、15-20nm の粒子が合成された。

Fe³⁺の初期添加量がゼロ Fig.2(a)の時は、発生する核の数が少ないために粒子径が増大した。Fe³⁺の初期添加量を増やすことにより、発生する核の数が増加するために Fig.2(b)から Fig.2(f)のように粒子径が減少したと考えられる。

酸化法によりマグネタイトの粒子径を制御するには、コバルトフェライトと同様に Fe²⁺/Fe³⁺モル比、酸化剤の添加量、NaOH 濃度などの検討が必要である。

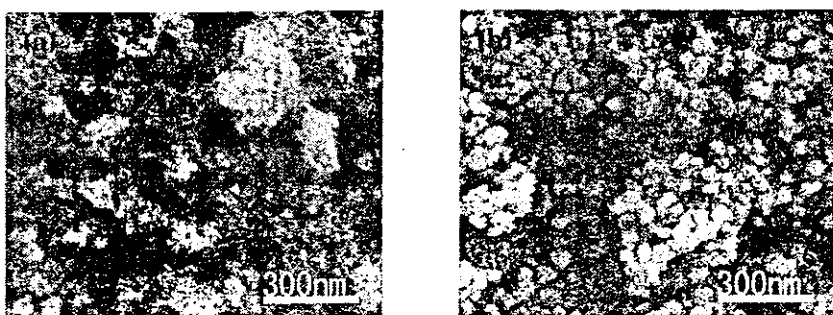


Fig.1 The SEM micrographs of Fe₃O₄ particles synthesized by coprecipitation process.

(a) Fe²⁺/Fe³⁺=0.5, (b) Fe²⁺/Fe³⁺=2

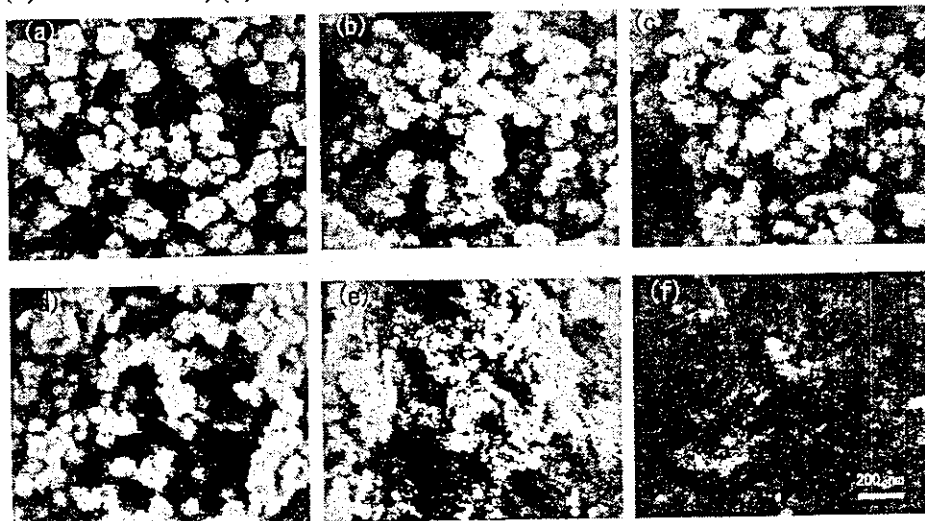


Fig.2 The SEM micrograph of CoFe₂O₄ particles synthesized under ferric ion concentration.

The Fe³⁺/Fe²⁺ ratios are (a) 0, (b) 0.15, (c) 0.20, (d) 0.25, (e) 0.35, (f) 0.5

4.3 ポリオールプロセス

Fig.3 に合成したコバルトフェライトの SEM 写真を示す。コバルトイオン濃度を増加させることにより(a)から(c)のように粒子径が減少した。しかし、粒度分布が大きいことから還元速度を液中で一定にする必要がある。また、白金を添加することにより粒子の微小化

が実現した。還元速度が増加したことから粒子径が減少したと考えられる。(d)、(e)の粒子径はそれぞれ 40-50nm、30-40nm、程度である。(c)の粒子径が 100-200nm 程度であるから、本研究では検討できなかった粒子径 10nm と 100nm の粒度分布の小さい粒子の合成を実現することで、医療応用の際に粒子径効果を検討するのに十分な種類がそろふと考えられる。

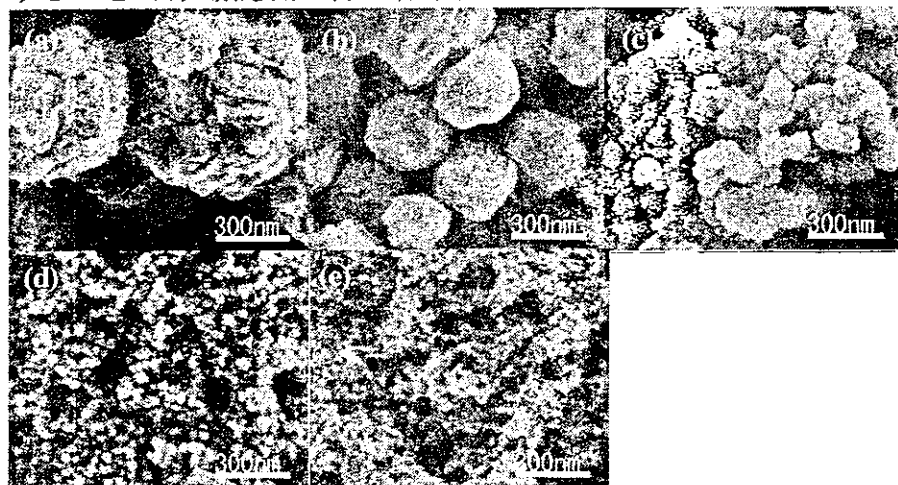


Fig.3 The SEM micrograph of Co particles synthesized under cobalt ion concentration and platinum. (a) Co 0.0025mol (b) Co 0.025mol (c) Co 0.0125mol (d) Co 0.0025mol Pt 0.0125g (e) Co 0.0025mol Pt 0.05g

5.磁性ナノ粒子の医療応用

5.1 実験方法

今回の実験では、共沈法により合成したマグネタイト粒子を検出剤として用いた。粒子素材、粒子径による移行性の検討を行うため、界面活性剤は使用しなかった。

マグネタイト 5.01mg を PBS(-)(Wako chem. Dulbecco's PBS pH=7.4)100 μ l に添加し超音波処理を 10 分間行い分散させた後、麻酔下のマウス(BALB nu-nu 生後 10~12 週)の盲腸壁に注入し、30 分後に盲腸、センチネルリンパ節を切除した。切除した盲腸、リンパ節を標本にして顕微鏡観察を行った。

5.2 実験結果および考察

マグネタイト注入 30 分後の盲腸、センチネルリンパ節の組織観察写真を Fig.4 に示す。Fig.4(a)から盲腸壁に、Fig.4(b)(c)からセンチネルリンパ節にマグネタイト粒子が存在することが観察された。この観察結果から、マグネタイト粒子 40nm 程度のものはリンパ管を通過してリンパ節に移行することがわかった。しかし、観察により確認できた粒子量は非常に少なかった。この原因として盲腸壁は非常に薄いため、壁内に注入することが非常に難しく、注入時に盲腸内部に磁性ナノ粒子がもれ出てしまったため、盲腸壁に注入できた磁性ナノ粒子量がもともと少なかったのではないかと考えられる。しかし、注入量が少ないにも関わらず、リンパ節への移行が認められたことから、共沈法により合成した粒子径

40nm 粒子がリンパ節へ移行することが確認された。



Fig.4 Photograph of (a) Cecum, (b) and (c) Lymph node, 30 min. passed after magnetite injection.

6.結言

共沈法、酸化法、ポリオール法などの粒子合成方法を用いることで、素材、粒子径もさまざまな磁性ナノ粒子の合成が可能である。これらの磁性ナノ粒子により医療分野への応用を検討する際に選択肢が増加すると考えられ、さらなる応用範囲の広がり、高性能化が期待できる。今回の研究においては、共沈法合成マグネタイトをセンチネルリンパ節検出剤として用いたが、酸化法により粒子径を調整したマグネタイトを合成することにより、マグネタイト粒子径によるリンパ節移行性の検討が可能となる。また、コバルト粒子の粒子径制御が可能となったことから、各粒子径における生体適合性試験などを行い、医療への応用について検討できる。

謝辞

本研究の一部は、厚生科研費(課題番号 H14-ナノ-021)によることを記し、謝意を表します。動物実験において貴重なご支援を頂いた東北大学大学院医学系研究科、佐々木巖教授、溝井賢幸助手、小山淳氏に謝意を表します。

参考文献

- 1)A.Jordan, R.Scholz et al. *Int.J.Hyperthermia*, vol.13, p83, 1997
- 2)A.Jordan, R.Scholz et al. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, vol.201, p413, 1999
- 3)Ch.Alexiou, W.Arnold et al. *Cancer research*, vol.60, p6641, 2000
- 4)Ch.Alexiou, A.Schmidt et al. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, vol.252, p363, 2002
- 5)G.Prioult, C.Turcotte et al. *International Dairy Journal*, vol.10, p627, 2000
- 6)Peter R. Levison, Stephen E. Badger et al. *Journal of Chromatography A*, vol.816, p107, 1998
- 7)C.N.Chinasamy, B.Jeyadevan, et al. *IEEE Transaction on Magnetics* vol.38 no.5 p2640 2002
- 8)B.Jeyadevan, C.N.Chinasamy et al. *Journal of the Japan Society of Powder and PowderMerallurgy* vol.50 no.2 p114 2002
- 9)U. Veronesi, G. Paganelli, *Lancet*, vol.349, p1864, 1997

糖鎖によるカーボンナノチューブの表面修飾

○赤坂 司¹⁾, 佐藤義倫²⁾, 田路和幸²⁾, 亘理文夫¹⁾

1) 北大院・歯, 2) 東北大・環境科学

Carbohydrate Coating of Carbon Nanotubes

○Tsukasa AKASAKA¹⁾, Yoshinori SATO²⁾, Kazuyuki Tohji²⁾, Fumio WATARI¹⁾

1) Hokkaido University, Graduate School of Dental Medicine, Sapporo, Hokkaido, Japan

2) Tohoku, Graduate School of Environmental Studies, Sendai, Miyagi, Japan

We have demonstrated that multi-walled carbon nanotubes (MWCNTs) coated with a carbohydrate-carrying polymer for use as biological recognition signaling molecule can be easily prepared by a non-covalent method via hydrophobic interactions. Fluorescence observation by confocal laser scanning microscopy showed that the carbohydrate-carrying polymer was uniformly and densely localized along needle shape of the MWCNT. To evaluate biological recognition affinity, interactions of the MWCNT with lectins were examined by binding tests. The resultant MWCNT was found to acquire a selective binding affinity to the corresponding lectin without a nonspecific interaction. On the other hand, a bare MWCNT nonspecifically interacted with lectins. These results showed that a MWCNT coated with a carbohydrate-carrying polymer has biological recognition signals. Modification of a CNT with various carbohydrate chains will be a useful protocol for molecular designs of biomaterials, nanoarchitecture, and biosensors.

[目的]

カーボンナノチューブ(CNTs)は炭素原子の六員環ネットが円筒状に閉じた直径がナノメートルスケールの中空チューブである。製造法の違いにより単層、多層や直径、長さ等の異なる CNTs が合成でき、様々な分野で新たな現象や特性が引き出されると期待されているナノ材料である。現在、CNTs は水素吸蔵などのエネルギー分野やエレクトロニクス分野で集中的な研究が行われている。その中で CNTs のバイオ分野への応用研究もいくつか開始されつつあり、バイオセンサー、タンパク質の結晶化担体、原子間力顕微鏡 (AFM) の探針としての利用が注目を集めている。一方、近年、次世代ポストゲノムに位置づけられている糖鎖は、生体内で様々な働きをしていることが知られており、例えば、ウイルス・病原菌の初期感染や細胞間接着、受精、ガン細胞の転移などの認識現象が挙げられる。

本研究では CNTs のバイオ分野でのさらなる展開のため、糖鎖を MWCNT へ導入することを目的とした。今回、糖鎖を側鎖を持った人工複合糖質高分子を選び、市販にて容易に入手可能な糖鎖置換型ポリスチレン (PV-Sugar) を用い、多層カーボンナノチューブ(MWCNT)への吸着による簡便な表面修飾法を検討した。

[材料と方法]

1、材料および機器

原料である多層カーボンナノチューブは、NanoLab 社 (Brighton, MA) および MTR 社 (Ohio, U.S.A.) より購入し 6N 塩酸にて 1 晩還流した。その後、脱イオン水にて十分洗浄後乾燥し実験に使用した (Fig. 1)。市販人工複合糖質高分子であるポリ-(N-p-ビニルベンジル-O-β-D-ガラクトシル-D-グルコンアミド) (ラクトース置換ポリスチレン; PVLA: 分子量 5×10^4) および FITC ラベル化 PVLA は生化学工業 (株) より購入した。ローダミンラベル化 *Ricinus communis* agglutinin lectin (Rhod-RCA₁₂₀, β-ガラクトース結合性レクチン) とローダミンラベル化コンカナバリン A (Rhod-ConA, α-グルコースおよびα-マンノース結合性レクチン) は、VECTOR Laboratories, Inc. より購入した。

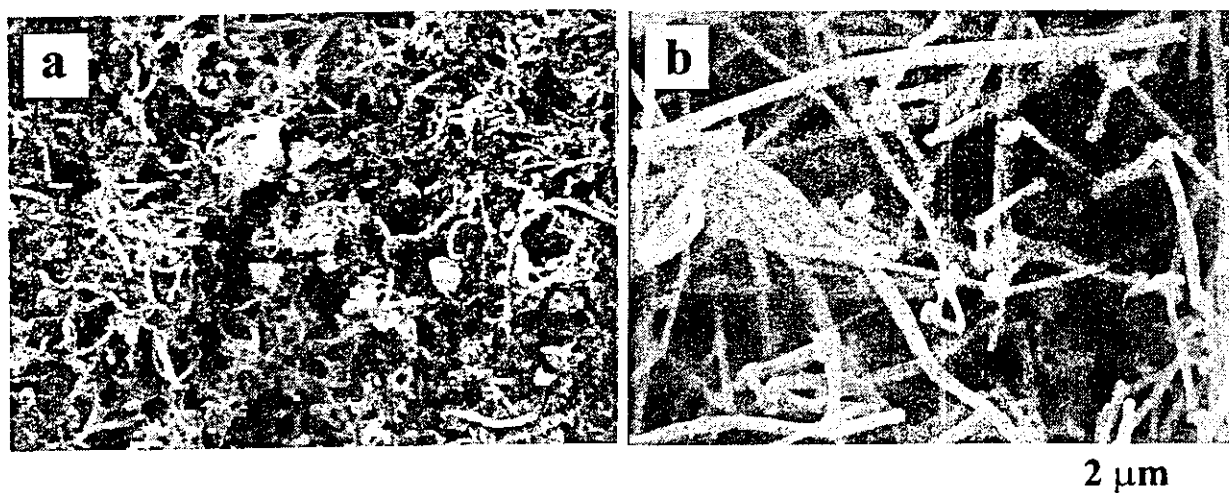


Fig. 1. SEM images of purified MWCNTs. a: NanoLab (n-MWCNT), b: MTR Co., Ltd. (m-MWCNT).

走査型電子顕微鏡観察は日立製 S-4000 scanning electron microscope (SEM) を、IR 吸収スペクトル測定は JASCO FT/IR-300E fourier transform infrared spectrometer を用いて行った。共焦点レーザー顕微鏡 (CLSM) での観察は、試料溶液の一部をガラススライド上へ滴下し、溶液の蒸発を避けるためカバーガラスをかぶせ測定した。CLSM は Carl Zeiss 製 LSM 410 Axiovert microscope を使用し、20 倍におけるズームファクター 4.8 にて透過および蛍光測定した。FITC の場合、488-nm アルゴンにて励起し 515~565 nm の間の蛍光を観察した。ローダミン測定の場合、543-nm He-Ne ビームで励起し 590 nm 以上の蛍光を観察した。

2、糖質高分子によるカーボンナノチューブの表面修飾

MWCNT を脱イオン水に加え 50mg/L 濃度とし、15 分間超音波処理を行った。人

工複合糖質高分子 PVLA を最終濃度が 2%となるよう加え、さらに 15 分間超音波処理を行った後、室温にて 1 時間静置した。未吸着の PVLA を除くため、0.2 μm のろ過膜を用いた遠心ろ過を行い、PBS および脱イオン水にて十分洗浄した。ろ過残渣を乾燥後、KBr 法を用いた FT-IR 分析 (透過測定) を行った。続いて、より明確に吸着を観察するため、FITC ラベル化 PVLA を用いて同様な吸着操作を行い、未吸着の糖質高分子を除くため遠心分離し、凝集した MWCNT を PBS および脱イオン水にて十分洗浄した。MWCNT への糖質高分子の吸着状態は共焦点レーザー顕微鏡 (CLSM) にて観察した。

3、糖鎖で修飾したカーボンナノチューブとレクチンとの相互作用

MWCNT の表面に吸着した糖鎖の機能を検討するためレクチンを用いた結合試験を行った。FITC ラベル化糖鎖にて修飾した MWCNT の一部をエッペンドルフチューブに分取し PBS に懸濁した。その溶液にローダミンラベル化レクチン (Rhod-RCA₁₂₀ または Rhod-ConA) を最終濃度 450nM となるよう加え、1 時間室温にて静置した。続いて、未吸着のレクチンを除くため遠心分離し、エッペンドルフチューブの底に凝集した MWCNT を PBS にて十分洗浄した。得られた凝集体の一部をスライドガラス上へ滴下し、レクチンの結合状態を CLSM にて観察した。

[結果及び考察]

MWCNT の 糖鎖修飾を目的とし、人工複合糖質高分子である PVLA と水溶液中にて混ぜ合わせ、MWCNT への PVLA 吸着による表面修飾法を検討した。吸着精製後、n-MWCNT 凝集体を乾燥し n-MWCNT へ糖鎖が結合しているか確認するため FT-IR を用いた分析を行った。その結果、PVLA と混ぜ合わせた n-MWCNT のスペクトル (Fig.2b) は、原料の n-MWCNT (Fig.2a、特徴的な吸収なし、吸収波数 1600 および 1100 cm^{-1} 付近) と PVLA のみ (Fig.2c、水酸基由来 3300 cm^{-1} およびアミド由来 1750 cm^{-1} 付近) が合わさったスペクトルとして観察された。しかしながら、得られた混合物のピークは、それぞれの化合物由来のピークの明らかなシフトとしては観察されず、結合部位の特定にはいたらなかった。これらの結果より、PVLA は MWCNT と混ぜ合わせるのみで容易に MWCNT へ吸着し、吸着した PVLA は PBS や脱イオン水を用いたろ過洗浄では除去できない程度の強さで吸着していること

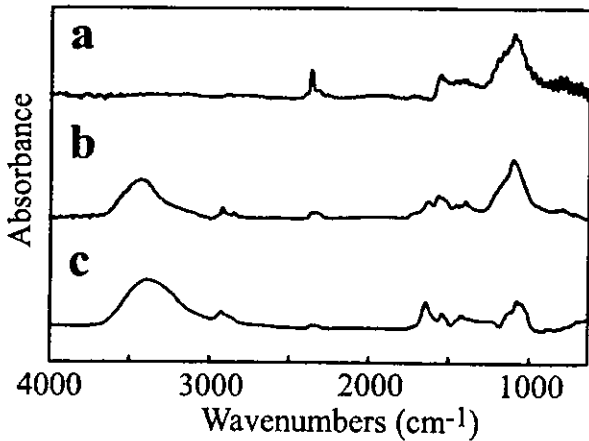


Fig. 2. FT-IR spectra of n-MWCNT (a), n-MWCNT coated with PVLA (b), and PVLA (c).

が明らかとなった。

次に、MWCNT への PVLA の吸着をより直接的に観察するため、FITC ラベル化 PVLA (FITC-PVLA) を MWCNT へ吸着させ、CLSM を用いた蛍光顕微鏡観察を行った (Fig.3)。NanoLab 社製 n-MWCNT を原料とした場合 (Fig.3a、b)、ナノチューブの直径が細く (Fig.1a 参照、平均チューブ直径約 30nm) CLSM を用いた透過や蛍光測定によっては n-MWCNT の針状形態は観察できないが、透過測定の結果では n-MWCNT が凝集体として黒く観察された。同視野における蛍光測定では n-MWCNT 凝集体の輪郭に沿って全体的に FITC-PVLA に由来する蛍光が観察された。MTR 社製 m-MWCNT を原料として用いた場合 (Fig.3c、d) では、透過測定の結果では m-MWCNT の針状形態 (Fig.1b 参照、平均チューブ直径約

300nm) およびそれらの凝集体として黒く観察された。同視野における蛍光測定では、m-MWCNT の針状形態に沿って密に蛍光が観察された。これらの結果より、MWCNT と人工複合糖質高分子 PVLA を混ぜるのみで容易に MWCNT 表面修飾が達成され、また MWCNT の表面の糖鎖は密に配置していることが明らかとなった。O'Connell ら¹⁾によれば MWCNT とポリスチレンスルホン酸は疎水的な相互作用により吸着することが報告されて

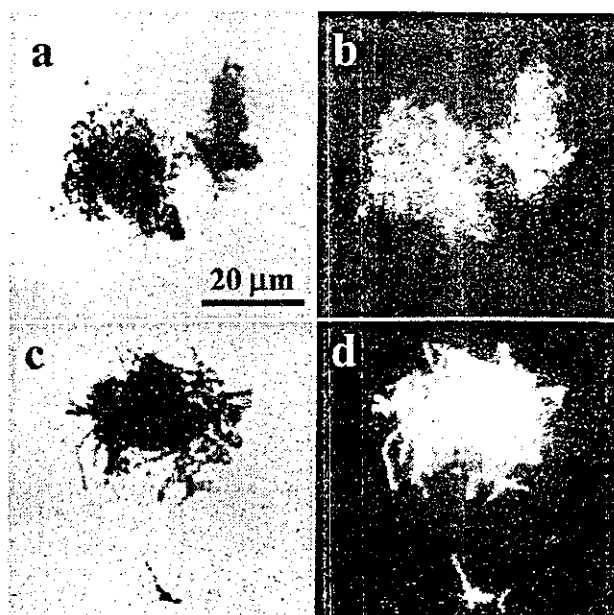


Fig. 3. CLSM images of MWCNTs (upper: n-MWCNT, lower: m-MWCNT) coated with FITC-PVLA. The left column (a, c) shows images obtained in a transmitted light channel and the right column (b, d) shows images obtained in an FITC channel.

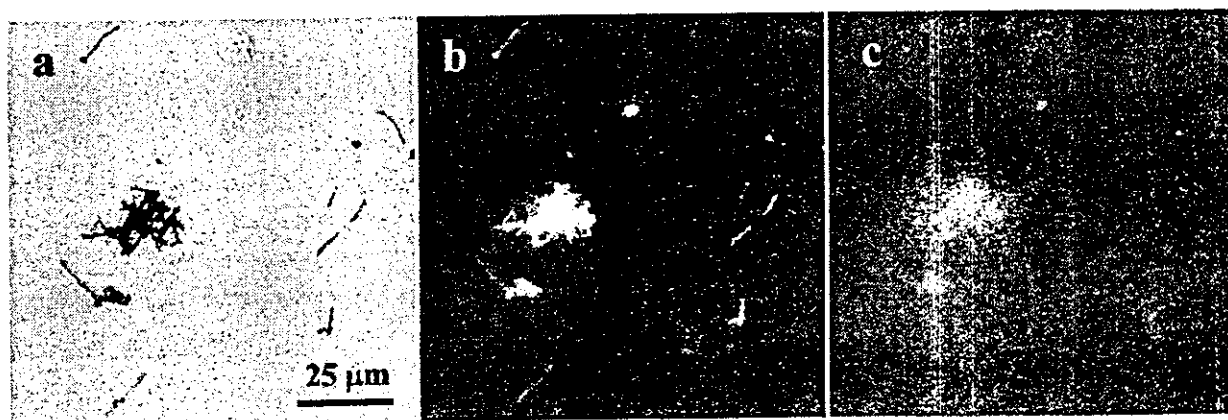


Fig. 4. CLSM images of a m-MWCNT coated with FITC-PVLA after incubation with Rhod-RCA₁₂₀. a: Transmitted light channel, b: FITC channel, c: Rhodamine channel.

いるので、MWCNT への PVLA の吸着も同様にポリスチレン骨格による疎水的な結合が関与していることが考えられる。

続いて、MWCNT 表面に吸着した糖鎖が糖鎖としての機能を保持しているか検討するため、レクチンを用いた結合試験を行った。結合試験にて使用したレクチンは、PVLA に対して結合性を有するレクチン RCA₁₂₀ (β -ガラクトース結合性) と結合性を異にするレクチン ConA (α -マンノース結合性) を選択し、また、それぞれのレクチンは MWCNT への結合の有無を判断するためローダミンラベル化レクチン (Rhod-Lectin) を用いた。

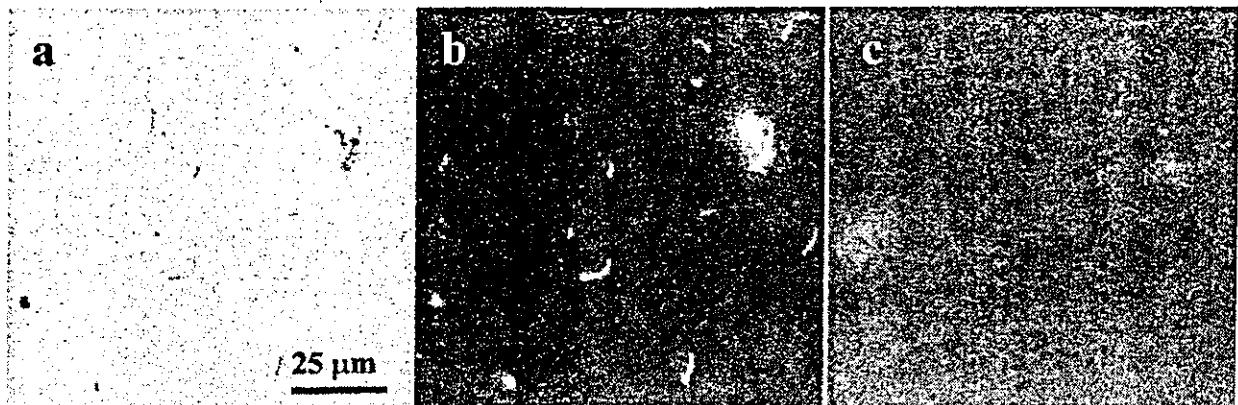


Fig. 5. CLSM images of a m-MWCNT coated with FITC-PVLA after incubation with Rhod-ConA. a: Transmitted light channel, b: FITC channel, c: Rhodamine channel.

FITC-PVLA で修飾した m-MWCNT に対する Rhod-RCA₁₂₀ の結合試験の結果 (Fig.4)、m-MWCNT の針状形態および凝集体輪郭に沿って吸着した FITC-PVLA の蛍光 (Fig.4b) と同様な位置に、Rhod-RCA₁₂₀ の蛍光 (Fig.4c) が観察された。一方、FITC-PVLA で修飾した m-MWCNT に対する Rhod-ConA の場合 (Fig.5)、m-MWCNT の針状形態および凝集体に吸着した PVLA の FITC の蛍光 (Fig.5b) は観察されるものの、Rhod-ConA の蛍光 (Fig.5c) は観察されなかった。これらの結果は、MWCNT 表面に吸着した糖鎖へ相当するレクチンが選択的に結合していることを示しており、Rhod-RCA₁₂₀ は MWCNT 表面に吸着した糖鎖の β -ガラクトース末端を認識している

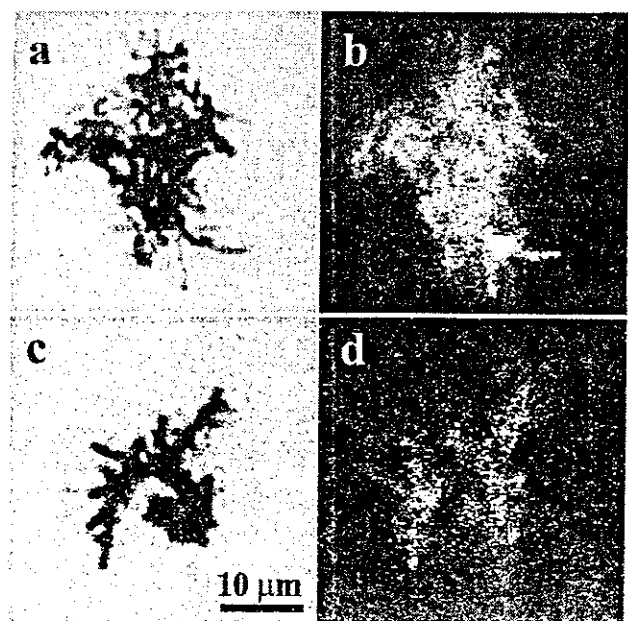


Fig. 6. CLSM images of a bare m-MWCNT after incubation with Rhod-RCA₁₂₀ (upper) and Rhod-ConA (lower). (a, c) Transmitted light channel. (b, d) Rhodamine channel.

と考えられる。よって、表面に吸着した糖鎖の機能が保たれていることが明らかとなった。

コントロール実験として、はだかの MWCNT とそれぞれのレクチンとの結合を観察したところ (Fig.6)、Rhod-RCA₁₂₀ と Rhod-ConA は共に MWCNT 表面へ吸着した。これはレクチンを構成する疎水性アミノ酸部分によって MWCNT への非特異吸着のためと考えられる。レクチンの糖鎖で修飾した MWCNT への選択的結合とはだかの MWCNT への非特異吸着の結果を考慮すると、MWCNT 表面の糖鎖は非特異的なレクチンの吸着を防ぐブロッキング効果の役割も同時に果たしていることが推測された。

[結言]

CNTs のバイオ分野でのさらなる展開のため糖鎖を MWCNT へ導入することを目的とし、糖鎖を側鎖を持った人工複合糖質高分子 (PVLA) を選び MWCNT への吸着による簡便な表面修飾法を検討した。その結果、MWCNT と PVLA を混ぜ合わせるのみで容易に表面修飾が可能であることが明らかとなった。また、MWCNT 表面に吸着した糖鎖は、相当するレクチンにより選択的認識が起こることより、機能が保持していることが判明した (Fig.7)。今回開発した人工複合糖質高分子 PVLA による MWCNT の表面修飾は、市販の試薬を利用できること、修飾操作は非常に簡単であることなどの利点を持っており、MWCNT への糖鎖修飾法として非常に有用であると考えられる。今後、糖鎖で修飾した MWCNT のウイルスや微生物との結合や細胞培養担体として利用を検討していく予定である。

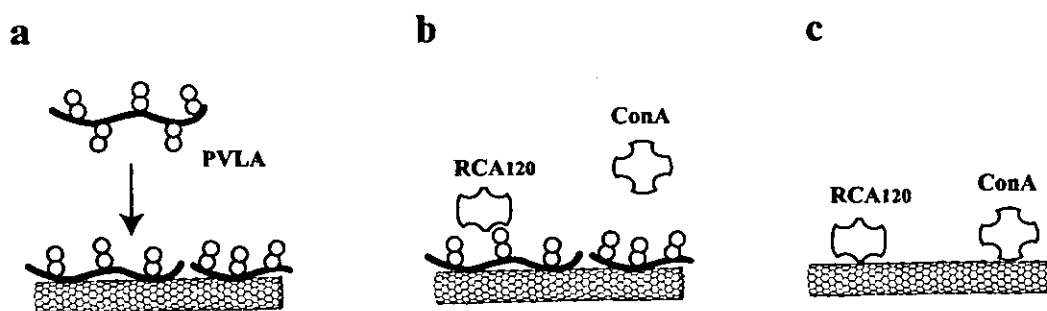


Fig. 7. Illustrations of (a) adsorption of PVLA onto the surface of a MWCNT, (b) specific interaction between a MWCNT coated with PVLA and lectins, and (c) non-specific interaction between a MWCNT and lectins.

[謝辞]

本研究の一部は厚生科研費 (課題 H14-ナノ-021) によるものである。

[参考論文]

- [1]. O'Connell MJ, Boul P, Ericson LM, Huffman C, Wang Y, Haroz E, Kuper C, Tour J, Ausman KD, Smalley RE, Chem Phys Lett, 342, 265(2001)

単層カーボンナノチューブ焼結体の機械的特性に及ぼす 不純物の影響

○山本 剛¹⁾, 大坪 誠²⁾, 佐藤義倫²⁾, 高橋 亨¹⁾, 大森 守³⁾, 田路和幸²⁾, 橋田俊之¹⁾

1) 東北大・工, 2) 東北大・環境, 3) 東北大・金研

Effect of Impurities on Mechanical Properties of SWNT Solids Prepared by Spark Plasma Sintering

○ Go YAMAMOTO¹, Makoto OHTSUBO², Yoshinori SATO², Toru TAKAHASHI¹,
Mamoru OHMORI³, Kazuyuki TOHJI², Toshiyuki HASHIDA¹

1) Fracture Research Institute, Tohoku University, Sendai 980-8579, Japan

2) Graduate School of Environmental Studies, Tohoku University, Sendai 980-8579, Japan

3) Institute for Materials Research, Tohoku University, Sendai 980-8577, Japan

In this paper, a spark plasma sintering (SPS) method was employed to solidify single-walled carbon nanotubes (SWNTs) only, and the effect of impurities on the mechanical properties of the SWNT solids was examined using a small punch (SP) testing method. The SWNTs were prepared by an arc discharge method, and then purified using oxidation and chemical processes. The compaction pressure and the temperature used in the SPS method were 120MPa, and 1000°C, respectively. It was shown that the SWNT solids produced from the purified SWNTs gave higher fracture strength compared to the one prepared from the raw-soot (nearly 33MPa), with the maximum strength value being 47MPa. On the other hand, the Young's modulus was insensitive to the purification process. SEM, XRD and Raman spectroscopy observations indicated that the raw-soot included larger amount of the impurities such as metal particles and amorphous carbon than that for the purified SWNTs. Thus, the purification and removal of the impurities are expected to be effective for improving the fracture strength property of SWNT solids.

1. 序論

1993年に発見⁽¹⁾された単層カーボンナノチューブ(SWNTs)は炭素原子の6員環と5員環で編まれたグラフェンシートが継ぎ目無く閉じた円筒状構造であり, その直径と巻き方の幾何学的形状がカイラル指数によってユニークに決定される. その幾何学的形状に起因し, 金属性質や半導体性質を示すなど, 電氣的, 機械的特性が予測かつ実証され, その特異性からSWNT強化複合材料⁽²⁾, 走査型プローブ顕微鏡の探針⁽³⁾などへの応用研究が行われている. sp^2 結合で結ばれたグラファイトの面は化学結合で最強の結合であり, この面からなるSWNTは優れた機械的特性を有していることに加え, 化学的安定性や耐腐食性に優れているという利点も持ち合わせている. これらの優れた特性をマクロな世界まで引き出すことができれば, 応用範囲は極めて広いものになる. 本研究では, SWNT焼結体に含まれる不純物が機械的特性に及ぼす影響を明らかにするため, アーク放電法によって合成されたSWNTを含む煤を2種類の異なる精製方法を用いて不純物の除去を行った試料と, 精製を行わない煤を用い, 放電プラズマ焼結法⁽⁴⁾(SPS法)によりSWNT焼結体

を作製した。機械的特性の評価にはスモールパンチ試験法 (SP 試験法)を用い、SWNT 焼結体の破壊強度および破壊エネルギーの測定を行った。また、走査型電子顕微鏡(SEM)、X線回折(XRD)およびラマン分光器を用いて各試験片に含まれる不純物の評価を行った。

2. 試料の準備および SWNT 焼結体の作製

2-1. SWNT の合成

SWNTs は陽極に触媒金属として Fe/Ni が混合されたグラファイトロッドを使用したアーク放電法により合成した。合成手順を以下に示す。

真空引きされたチャンバー内で 100A の直流電流を 8 分間流し、グラファイトの抵抗加熱により焼結を行った。装置を冷却させた後、チャンバー内にアルゴンガスを 100torr まで満たし、両極間を 3mm に保ちながら 70A で放電を行った。チャンバー天井および内壁にシート状に堆積した煤を採取し、煤の均一化を行った。

2-2. SWNT の精製

アーク放電法で合成された煤には、SWNT の他にグラファイト、アモルファスカーボン、グラファイトカプセル、金属微粒子などの不純物が存在する。本研究では、以下に示す 2 通りの精製法を用い不純物の除去を行った。

- (1) 還流装置を用い、合成された煤 1g に対し、20%の過酸化水素水 750ml を使用し、6 時間加熱することで、煤に含まれるアモルファスカーボンの湿式酸化を行った。処理後の煤を濾過し乾燥させた後、6M の HCl で煤を洗い、金属微粒子を溶解し除去した。
- (2) 450℃に保持されたオープンでアモルファスカーボンの燃焼酸化を 30 分間行った。処理後の煤を 500℃のオープンで燃焼酸化を 30 分間行い、金属微粒子を取り囲むグラファイトカプセルの除去を行った。残った煤を 6M の HCl で洗い、金属微粒子を溶解し除去した。再び 500℃のオープンで燃焼酸化を 30 分間行い、残った煤を 6M の HCl で洗い、金属微粒子を溶解し除去した。

2-3. SWNT 焼結体の作製

SWNT の固化には SPS 法を用いた。SWNT 焼結体作製時の焼結パラメータおよび各試験片に対応する精製法を表 1 に示す。試験片は各作製条件に対し 2 個用意した。SPS 法を用いて作製した SWNT 焼結体を図 1 に示す。

Table 1. Processing conditions of SWNT solids prepared by SPS method and purification types.

Sample type	Sintering temperature (°C)	Sintering pressure (MPa)	Pulse duration: interval (ms)	Duration time (min)	Purification types
As-prepared SWNT	1000	120	12:2	5	-
Purified SWNT (1)	1000	120	12:2	5	1
Purified SWNT (2)	1000	120	12:2	5	2